

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 04/03/2020.



UNESP - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia

Avaliação do potencial de nanodispersões de cristal líquido funcionalizadas com cetuximabe na veiculação de docetaxel para o tratamento do câncer de próstata

Mestrando: Lucas Noboru Fatori Trevizan

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Coorientador: Prof. Dr. Josimar de Oliveira Eloy

Araraquara – SP

2018



UNESP - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia

Avaliação do potencial de nanodispersões de cristal líquido funcionalizadas com cetuximabe na veiculação de docetaxel para o tratamento do câncer de próstata

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia, Área de Biotecnologia, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Mestrando: Lucas Noboru Fatori Trevizan

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Coorientador: Prof. Dr. Josimar de Oliveira Eloy

Araraquara – SP

2018

Ficha Catalográfica

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

T814a Trevizan, Lucas Noboru Fatori
Avaliação do potencial de nanodispersões de cristal líquido funcionalizadas com cetuximabe na veiculação de docetaxel para o tratamento do câncer de próstata / Lucas Noboru Fatori Trevizan. – Araraquara, 2018.
108 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de concentração em Biotecnologia.

Orientador: Marlus Chorilli.
Coorientador: Josimar de Oliveira Eloy.

1. Nanodispersão de cristal líquido. 2. Cetuximabe. 3. Docetaxel. 4. Câncer de próstata. I. Chorilli, Marlus, orient. II. Eloy, Josimar de Oliveira, coorient. III. Título.

CAPES: 40300005

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, **Eunice Kiyoe Fatori e Paulo Alves Trevizan** por sempre acreditar em minha capacidade independentemente das situações, e por sempre me apoiarem me incentivando a ser mais forte a cada dia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço principalmente a minha família por sempre me apoiar em todos os momentos difíceis e sempre me encorajar por seguir em frente.

Agradeço ao meu amor por sempre ser compreensivo mesmo nas horas difíceis.

Agradeço a todos os meus amigos que estiveram presentes nesta etapa de crescimento.

Agradeço a toda equipe da Farmacotécnica que sempre esteve a disposição quando necessário.

Agradeço ao Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP, em especial à Prof^a. Dr^a. Juliana Maldonado Marchetti e seus alunos Giovanni Raspantini, Marcela Tavares e Juliana Abriatta pelo auxílio nas análises de citotoxicidade e *uptake* celular.

Agradeço ao Laboratório de Laboratório de Bioquímica e Biofísica de Proteínas - USP, São Carlos, em especial ao Prof. Dr. Júlio César Borges e seu aluno Sérgio Luiz Ramos Junior pelo auxílio nas análises de Fluorescência.

Agradeço ao Laboratório de Laboratório de Organometálicos – Instituto de Química - UNESP, Araraquara, em especial a Prof^a. Dr^a. Regina Celia Galvao Frem pelo auxílio nas análises de Infravermelho.

Agradeço ao Laboratório de Laboratório de Análise Térmica – Instituto de Química - UNESP, Araraquara, em especial ao Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro pelo auxílio nas análises termogravimétricas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPQ) – Processo n° 134335/2016-3.

Agradeço à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro na forma de bolsa de mestrado - Processo n° 2016/22042-5.

"A Grande Arte de se Aprender a Viver
É aprender a lidar com a morte
Pois é quando encontramos com ela
Que entendemos o que significa estar vivo"
-Um amigo qualquer-

RESUMO

O câncer de próstata (CP) é a segunda neoplasia mais frequente entre homens no Brasil e é caracterizado por não apresentar sintomas em seus estágios iniciais, sendo diagnosticado em seu estágio avançado, o que muitas vezes dificulta o tratamento. Alguns fatores relacionados podem intensificar sua agressividade como, por exemplo, a superexpressão do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) em alguns subtipos de tumores de próstata. Neste contexto, a inibição do EGFR auxilia no combate da neoplasia, função essa que pode ser atribuída ao anticorpo monoclonal quimérico IgG1 (cetuximabe-CTX) que se liga à porção externa do EGFR, inibindo a proliferação celular, angiogênese e metástase, além de promover a apoptose. Dentre as formas de tratamento destacam-se a braquiterapia, a radioterapia e a quimioterapia utilizando o docetaxel (DTX), o qual apresenta vantagem de prolongar a sobrevivência em pacientes com CP metastático resistentes à terapia antiandrogênica. No entanto, a formulação comercial (Taxotere[®]) causa efeitos colaterais, como febre, anemia, retenção de líquidos, hipersensibilidades, mialgias, mucosite, neuropatias periféricas e toxicidade a pele e unhas, tornando necessário o estudo de novas formas de veiculação para este fármaco. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma nanodispersão de cristal líquido (NCL) de fase cúbica baseada em álcool cetílico etoxilado 20 e propoxilado 5 como tensoativo (T), ácido oleico, DSPE-PEG-MAL e fosfatidilcolina de soja (FCS) como fase oleosa (FO) e dispersão de poloxamer 1,5% em tampão PBS como fase aquosa (85% FA m/m). A formulação foi incorporada de DTX e funcionalizada com CTX para avaliação do seu potencial no tratamento do CP. A caracterização da nanodispersão foi realizada pelas análises de tamanho de partícula, polidispersividade, potencial zeta, termogravimetria, microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espectroscopia de infravermelho. Os resultados sugeriram que o sistema obtido possui escala nanométrica e apresentou carga negativa, além de possuir capacidade termoprotetora para o fármaco e não apresentar interferência na estrutura química do mesmo, além de pertencer à fase de cristal líquido cúbica após a dispersão do cristal líquido. Os estudos de incorporação de DTX à nanodispersão indicaram taxa de incorporação de 50%. Os ensaios celulares de *uptake* indicaram que a NCL pode ser utilizada como mecanismo de entrega para o citoplasma celular uma vez que revelaram citotoxicidade e *uptake* celular nas linhagens celulares DU145 e PC3. Por fim, as análises de citotoxicidade indicaram maior citotoxicidade das NCL com DTX não funcionalizada para ambas as linhagens DU145 e PC3; entretanto, os dados obtidos não foram conclusivos para evidenciar o efeito da funcionalização das NCL.

Palavras chave: nanodispersão de cristal líquido. cetuximabe. docetaxel. câncer de próstata.

ABSTRACT

Prostate cancer (PC) is the second most frequent neoplasm among men in Brazil and is characterized by not presenting symptoms in its early stages, being diagnosed in its advanced stage, which often makes treatment difficult. Some related factors may intensify their aggressiveness, for example, epidermal growth factor receptor (EGFR) overexpression in some prostate tumor subtypes. In this context, inhibition of EGFR aids in the fight against neoplasia, a function that can be attributed to chimeric monoclonal antibody IgG1 (cetuximab-CTX) that binds to the outer portion of EGFR, inhibiting cell proliferation, angiogenesis and metastasis, as well as promoting to apoptosis. Among the forms of treatment, brachytherapy, radiotherapy and chemotherapy using docetaxel (DTX), which has the advantage of prolonging survival in patients with metastatic CP resistant to antiandrogen therapy, stand out. However, the commercial formulation (Taxotere®) causes side effects such as fever, anemia, fluid retention, hypersensitivity, myalgia, mucositis, peripheral neuropathies and toxicity to the skin and nails, making it necessary to study new forms of delivery for this drug. Thus, the objective of this work was to develop an ethoxylated and propoxylated cetyl alcohol-based liquid crystal (NCL) nanodispersion 20 as a surfactant (T), oleic acid, DSPE-PEG-MAL and soy phosphatidylcholine (FCS) as oily phase (FO) and 1.5% poloxamer dispersion in PBS buffer as aqueous phase (85% FA m / m). The formulation was incorporated with DTX and functionalized with CTX to assess its potential in the treatment of CP. The nanodispersion characterization was performed by the analysis of particle size, polydispersity, zeta potential, thermogravimetry, transmission electron microscopy (TEM) and infrared spectroscopy. The results suggested that the obtained system has a nanometric scale and presented negative charge, besides having thermoprotective capacity for the drug and not presenting interference in the chemical structure of the same, besides belonging to the phase of liquid crystal cubic after the dispersion of the liquid crystal. DTX incorporation studies on nanodispersion indicated a 50% incorporation rate. Uptake cell assays have indicated that NCL can be used as a delivery mechanism for cell cytoplasm since they have shown cellular cytotoxicity and uptake in DU145 and PC3 cell lines. Finally, cytotoxicity analyzes indicated higher cytotoxicity of NCL with non-functionalized DTX for both DU145 and PC3 lines; however, the data obtained were not conclusive to show the effect of NCL functionalization.

Keywords: liquid crystalline nanodispersion. cetuximab. docetaxel. prostate cancer.